

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
4 novembre 2004 (04.11.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 2004/094662 A2

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12Q 1/68

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2004/000963

(22) Date de dépôt international : 19 avril 2004 (19.04.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0304893 18 avril 2003 (18.04.2003) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : COM-  
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR];  
31-33 rue de la Fédération, F-75015 PARIS (FR). UNI-  
VERSITE JOSEPH FOURIER [FR/FR]; 621 Avenue  
Centrale, Domaine Universitaire de St Martin d'Hères,  
F-38041 CEDEX 9 GRENOBLE (FR). CENTRE NA-  
TIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
[FR/FR]; 3 rue Michel-Ange, F-75794 CEDEX 16 PARIS  
(FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : BRACHET,

Anne-Gaëlle [FR/FR]; Montée du Château d'eau, F-38260  
NANTOIN (FR). RIZO, Philippe [FR/FR]; 25 Chemin de  
Chantermerle, F-38700 LA TRONCHE (FR). TABERLET,  
Pierre [FR/FR]; 2 rue de Belledonne, F-38660 LA TER-  
RASSE (FR). TEXIER-NOGUES, Isabelle [FR/FR]; 3,  
rue Belin, F-38000 Grenoble (FR).

(74) Mandataire : CABINET ORES; 36 rue de St Péters-  
bourg, F-75008 PARIS (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de  
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,  
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,  
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,  
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,  
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,  
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de  
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM,  
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT,  
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD OF PREPARING DNA FRAGMENTS BY SELECTIVE FRAGMENTATION OF NUCLEIC ACIDS AND APPLICATIONS THEREOF

(54) Titre : PROCEDE DE PREPARATION DE FRAGMENTS D'ADN PAR FRAGMENTATION SELECTIVE D'ACIDES NU-  
CLEIQUES ET SES APPLICATIONS.

(57) Abstract: The invention relates to a method of preparing DNA fragments by selective fragmentation of nucleic acid fragments. The inventive method comprises a first selection step involving selection of short fragments, consisting in: a) preparing first double-stranded DNA fragments F1 using at least one restriction enzyme E1 which can randomly fragment the nucleic acid sample to be analysed, by generating said DNA fragments F1 with blunt or cohesive ends; b) ligating the ends of the DNA fragments F1 obtained in step (a) to at least one adapter AA'; c) cleaving the DNA fragments F1 obtained in step (b) using a restriction enzyme E2, such as to select a fraction of short fragments F2; and d) using any suitable means to purify the aforementioned fraction of short fragments F2. The inventive method also comprises the following optional step involving the second selection of one or more fragment sub-groups from the fraction of short fragments F2 obtained in step (d), said optional step consisting in: e) ligating the free end of the short fragments F2 obtained in step d) to at least one second complementary adapter BB' (production of fragments F2'); and f) amplifying short fragments F2. The invention also relates to the applications of the above-mentioned method for the analysis of genomes and transcriptomes.

(57) Abrégé : Procédé de préparation de fragments d'ADN par fragmentation sélective d'acides nucléiques qui comprend : I. Une première sélection de fragments courts comprenant : a) la préparation de premiers fragments d'ADN double-brin F1 &ocirc; l'aide d'au moins une enzyme de restriction E1, apte &ocirc; fragmenter de manière aléatoire l'échantillon d'acides nucléiques &ocirc; analyser, en générant lesdits fragments F1 d'ADN aux extrémités franches ou cohésives, b) la ligation des extrémités desdits fragments F1 d'ADN obtenus &ocirc; l'étape a) &ocirc; au moins un adaptateur AA', c) la coupure des fragments F1 d'ADN obtenus en b) &ocirc; l'aide d'une enzyme de restriction E2, de façon &ocirc; sélectionner une fraction de fragments courts F2, et d) la purification par tout moyen approprié de ladite fraction de fragments courts F2, et éventuellement, II. Une deuxième sélection d'un ou plusieurs sous-ensembles de fragments &ocirc; partir de la fraction de fragments courts F2 obtenue &ocirc; l'étape d), qui comprend : e) la ligation de l'extrémité libre de fragments courts F2 obtenus en d) &ocirc; au moins un second adaptateur complémentaire BB' (ob-  
tention de fragments F2'), et f) l'amplification des fragments courts F2. Applications dudit procédé pour l'analyse des génomes et des transcriptomes.

Best Available Copy



HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),  
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,  
MR, NE, SN, TD, TG).

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.*

**Publiée :**

- *sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapport*